

(19) SU⁽¹¹⁾1 469 826⁽¹³⁾ A1(51) МПК⁶

C 08 G 69/10//A 61 K 31/785

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО
ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ
СССР(21), (22) Заявка: 4091452/05, 30.05.1986
4091453/05, 30.05.1986

(46) Дата публикации: 20.11.1996

(56) Ссылки: Плэтэ Н. А. и Васильев А. А.
Физиологически активные полимеры. М.: Химия,
1986. Рожанская Н. И. и др. Фармакология
кардиотропных средств. М., 1984, с.145.

(71) Заявитель:

Институт высокомолекулярных соединений АН
СССР.Ленинградский научно-исследовательский
институт кардиологии,Ленинградский научно-исследовательский
институт скорой помощи им. И.Ц.Джанелидзе

(72) Изобретатель: Власов Г.П.,

Цыплин В.А., Гусаль В.А., Надеждина

Л.Б., Андреева Е.Н., Комогорова

Т.А., Сыренский А.В., Рубанова

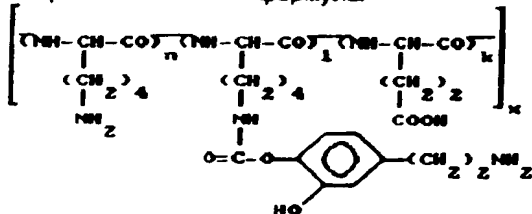
Н.С., Мазуркевич Г.С., Тюкавин А.И., Крецер

И.В.

(54) СОПОЛИМЕР L-ЛИЗИНА С L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТОЙ, СОДЕРЖАЩИЙ ДОФАМИНОВЫЕ БОКОВЫЕ
ГРУППЫ, ОБЛАДАЮЩИЙ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ГИПОТЕНЗИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ И
КОМПЕНСАТОРНЫМ ЭФФЕКТОМ ПРИ ГЕМОРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ, И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

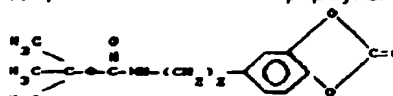
(57)

Изобретение относится к химии полимеров и может быть использовано в медицине. Изобретение позволяет создать полимерный физиологически активный препарат, обладающий пролонгированным гипотензивным действием и компенсаторным эффектом при геморрагическом шоке. Это достигается новой структурой вещества общей формулы



где l 0,13 20; n 0,47 0,54; k $(l + n)$ 0,33 0,67, с мол.м. $4 \cdot 10^4$ - $6 \cdot 10^4$, а также способом его получения путем обработки 1 мас.ч. сополимера L-лизина с L-глутаминовой кислотой 1 5 мас.ч. карбоната трет-бутилоксикарбонильного производного дофамина

формулы



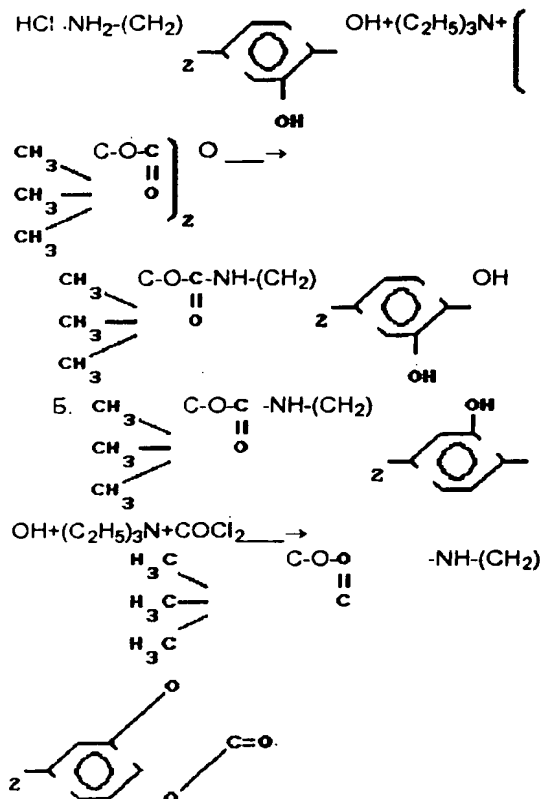
в водном растворе при pH 7-8. 2 с.п.ф-лы, 1 табл.

SU 1 469 826 A1

полимеров и медицине, а именно к сополимеру L-лизина с L-глутаминовой кислотой, содержащему дофаминовые боковые группы, и способу его получения.

Целью изобретения является создание сополимера L-лизина с L-глутаминовой кислотой, обладающего гипотензивной прологированной активностью и компенсаторным эффектом при геморрагическом шоке.

Пример 1. Синтез трет-бутилоксикарбонилдофамина (БОК-дофамина) и карбоната БОК-дофамина проводят по схемам:



А. Синтез БОК-дофамина.

1,89 г (0,01 моль) хлоридрата дофамина растворяют в 30 мл изопропанола в токе N_2 . К раствору добавляют 2,8 мл (0,02 моль) триэтиламина и раствор 2,5 г пирокarbonата в 5 мл изопропанола, а затем сразу еще 1,4 мл триэтиламина. Смесь перемешивают 2 ч при 20°C. Полноту протекания реакции контролируют методом тонкослойной хроматографии [пластинки Силуфол, система метанолхлороформ (8:2), проявление нингидрином].

После исчезновения пятна дофамина на хроматограмме из раствора отгоняют в вакууме легколетучие компоненты. Остаток растворяют в этилацетате и промывают 5%-ным водным раствором KHSO_4 до тех пор, пока в растворе этилацетата не останется один продукт. Полноту отмывания контролируют методом ТСХ. Раствор сушат над MgSO_4 и отгоняют растворитель.

Остаток кристаллизуют из смеси

перекристаллизованного трет-бутилоксикарбонилдофамина 2 г ($\approx 79\%$ от расчетного), т.пл. 137-138°C.

Найдено, С 61,35; 61,17; Н 7,69; 7,88, N 5,42; 5,48.

$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$ (БОК-дофамина).

Вычислено, С 61,64; Н 7,56; N 5,53.

Б. Синтез карбоната БОК-дофамина.

1,40 г (0,0058 моль) БОК-дофамина

растворяют в 30 мл сухого тетрагидрофурана. Раствор охлаждают до 0°C и одновременно добавляют раствор 0,6 г (0,006 моль) фосгена, растворенного в 1,4 г безводного бензола ($\approx 30\%$ -ный раствор), и 1,4 мл (0,01 моль) триэтиламина ($d^{20}_4=0,726 \text{ г/см}^3$). Раствор при перемешивании оставляют на 12 ч. Током азота отдувают избыток фосгена.

На стеклянном фильтре отделяют осадок хлоридрата триэтиламина. Из фильтрата в вакууме удаляют тетрагидрофуран. Сухой остаток перекристаллизовывают из гексана. Выход карбоната БОК-дофамина 1,10 г ($\approx 62\%$), т.пл. 94-96°C.

Найдено, С 60,81; 60,54; Н 6,43; 5,97; N 4,98; 4,88.

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}$.

Вычислено, С 60,20; Н 6,13; N 5,01.

Продукт хроматографически однороден [ТСХ, пластинки Силуфол, система хлороформ-метанол (98: 2) или гексан этилацетат (3:8), проявление нингидрином].

Строение карбоната БОК-дофамина подтверждено ИК-спектроскопией: при переходе от БОК-дофамина к карбонату БОК-дофамина наблюдаются (значительные), изменения в области 2000-1800 см^{-1} и в области 3700-3500 см^{-1} , которые могут быть объяснены замещением гидроксильных групп на карбонатную в бензольном кольце.

Пример 2. Получение сополимера.

0,2 г сополимера L-лизина с L-глутаминовой кислотой с мол. м.

$6 \cdot 10^4$ растворяют в 10 мл 5%-ного водного раствора бикарбоната натрия. К этому раствору добавляют раствор 0,2 г карбоната БОК-дофамина в 5 мл диметилформамида. Смесь выдерживают при перемешивании 24 ч. Затем прикапывают концентрированную соляную кислоту до pH 1. Подкисление ведут в токе азота. Раствор выдерживают 5 ч в токе азота. За это время pH изменяется до 2,5. С помощью 20% -ного раствора NaOH pH доводят до 7,0, после чего раствор диализуют против воды до исчезновения ионов Cl^- (по реакции с AgNO_3) и лиофилизуют. Выход сополимерного продукта $\approx 0,1$ г. С помощью гельхроматографии на сефадексе G-75 определяют молекулярную массу

полученного сополимерного продукта, она равна $6 \cdot 10^4$. Из спектров кругового дихроизма следует, что присоединилось $6,3 \cdot 10^{-4}$ моль дофамина на 1 г исходного сополимера, содержащего 0,33 мол.д. L-глутаминовой кислоты и 0,67 мол.д. L-лизина. Значения k , l и p в сополимере, полученном указанным путем, составляют 0,33; 0,13; 0,54. Данные по примерам 3-14, сравнительные данные и свойства описываемых сополимеров приведены в таблице.

Определение гемодинамического эффекта проводили на 5 наркотизированных (800 мг/кг

кошках и 9 ненаркотизированных крысах. Опыты на кошках выполняют в условиях искусственной вентиляции легких. В яремную вену (для введения испытуемых веществ) и сонную артерию [для регистрации уровня артериального давления (АД) электроманометром] вводят полиэтиленовые катетеры. Крысам катетеры вживлялись в бедренную артерию и яремную вену за 1-2 сут до проведения хронических экспериментов.

Как в острых (на наркотизированных животных), так и в хронических экспериментах действие сополимера L-лизина с L-глутаминовой кислотой, содержащего дофаминовые боковые группы, оценивались по сравнению с эффектами аналогов по структуре и по эффекту.

Дофамин вводили в дозе 3-5 мг/кг. Через 1-2 с после введения фиксировали повышение уровня АД. При этом средний прирост АД составлял $37 \pm 7\%$ от исходного уровня. Гипертензивная фаза действия дофамина продолжалась 2-3 мин и сменялась снижением артериального давления. Во всех случаях к восьмой минуте наблюдения уровень АД стабилизировался на величинах, соответствующих исходным. Соплимер испытан на тех же группах животных, что и дофамин.

Предварительно в трех контрольных экспериментах исследовали эффект сополимера L-лизина с L-глутаминовой кислотой с мол.м. $4 \cdot 10^4$ - $6 \cdot 10^4$ в дозах 5,15 и 25 мг/кг, не содержащего дофамина. Влияния сополимера на уровень системного АД не обнаружено.

Описываемый сополимер с дофаминовыми боковыми группами вводили внутривенно в дозе 10-25 мг/кг (или 2-5 мг/кг в расчете на активное начало). Через 7-10 мин после введения соединения развивалось стойкое снижение уровня АД, не сопровождающееся изменениями частоты сердечных сокращений. Уровень АД оставался сниженным на протяжении нескольких часов (при дозе 10-25 мг/кг от 3 до 5-7 ч).

Данные таблицы показывают, что полимерное производное дофамина по величине гипотензивного эффекта находится на уровне, а по продолжительности значительно превышает действие типичных представителей гипотензивных соединений: α -адреноблокаторов (фентоламин) и ганглиоблокаторов (пептамин), чем достигнуто значительное увеличение продолжительности действия препарата.

Необходимость использования карбоната трет-бутилоксикарбонилдофамина определяется тем, что при таком способе присоединения (за гидроксильную группу) не затрагивается NH_2 -группа, необходимая для проявления биологических свойств.

Результаты контрольной группы животных показали типичные для тяжелого геморрагического шока нарушения гемодинамики. Системное АД после кровопотери устанавливалось и поддерживалось на критическом уровне. Наблюдалась сильная гипотензия, что являлось следствием прогрессирующего снижения МОК из-за уменьшения систолического объема сердца, достаточного

гемодинамики. Компенсаторного увеличения общего периферического сосудистого сопротивления у животных контрольной группы не отмечалось. После кровопотери развивалась централизация кровообращения, которая ко второму часу увеличивалась на 50%. Перераспределение уменьшенно МОК обеспечивалось за счет резкого ограничения кровотока в бассейне брюшной аорты. Наступавшая затем декомпенсация кровообращения при отсутствии фармакологической коррекции ограничивала продолжительность жизни животных на уровне 108 ± 23 мин (на 4 животных).

Во второй группе (14 животных) кошкам через 15 мин после кровопотери внутривенно непрерывно вводили дофамин. При этом достигалась стабилизация АД на уровне 90-100 мм рт.ст. преимущественно за счет увеличения производительности сердца. Начиная с третьего часа наблюдения отмечалась брадикардия, что обеспечивало длительное поддержание систолического объема на стабильном уровне вплоть до периода декомпенсации. В отличие от изменения регионарного кровотока в контрольной группе у этих животных на протяжении 5 ч доля кровотока в спланхическом ретокте относительно не изменялась, а в бассейне каудальной аорты снижалась до 33% от исходного значения. В последующем усиливалась централизация кровообращения, что свидетельствовало о срыве механизмов компенсации. Продолжительность жизни животных этой группы была в 4,3 раза больше, чем в контроле.

В третьей группе (5 животных) вводился заявленный сополимер L-лизина с L-глутаминовой кислотой, содержащий дофаминовые боковые группы.

Введение осуществляли в количестве 2,5 мг/кг однократно через 15 мин после стандартной кровопотери. Через 30-90 мин от момента введения сополимера отмечалось восстановление АД до уровня 125-135 мм рт.ст. (исходное АД до кровопотери составляло 145-160 мм рт.ст.).

Установившийся уровень АД поддерживался в течение 4-6 ч за счет возрастания общего периферического сосудистого сопротивления в 1,3-1,5 раза без увеличения МОК.

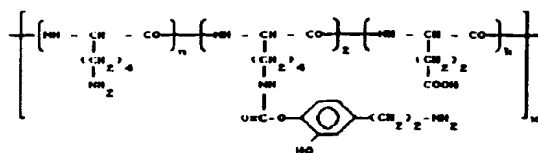
Если в ответ на кровопотерю наблюдалось преимущественное кровоснабжение органов и тканей головы и грудной клетки, то после введения сополимера заявленной структуры реакция централизации нивелировалась. Наблюдалось относительное увеличение (на 40-45%) кровотока в бассейне брюшной аорты. Оптимизация кровотока в спланхическом регионе сочеталась с ограничением МОК в бассейне каудальной аорты.

Период компенсации после однократного введения сополимера заявленной структуры в дозе 2,5 мг/кг составлял 4-6 ч. Таким образом, продолжительность жизни животных в сравнении с контролем увеличивалась в 2-3 раза. Более слабый эффект компенсации был достигнут при капельном введении дофамина в количестве 12 мг/кг мин, таким образом, за 240-360 мин вводили в 1,8-2 раза большее количество активного начала, чем в случае

Полученный результат позволяет заключить, что биотрансформация полимерного соединения дофамина в организме существенно отличается от дофамина-мономера.

Формула изобретения:

1. Сополимер L-лизина с L-глутаминовой кислотой, содержащий дофаминовые боковые группы, общей формулы



где n 0,47 0,54;

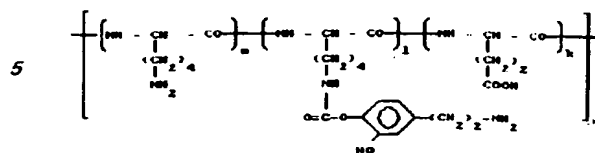
l 0,13 0,20;

$k (l + n)$ 0,33 0,67,

с мол. мас. $4 \cdot 10^4$ $6 \cdot 10^4$, обладающий пролонгированной гипотензивной активностью и компенсаторным эффектом при геморрагическом шоке.

2. Способ получения сополимера L-лизина с L-глутаминовой кислотой, содержащего

формулы

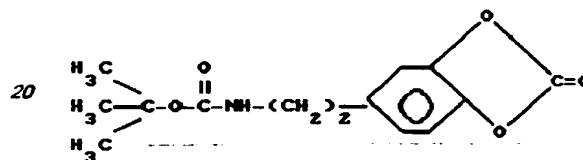


где n 0,47 0,54;

l 0,13 0,20;

$k (l + n)$ 0,33 0,67,

закрывающийся в обработке 1 мас. ч. сополимера 67 мол. L-лизина с 33 мол. L-глутаминовой кислоты в водном растворе при pH 7 8 1 5 мас. ч. карбоната трет-бутилоксикарбонильного производного дофамина формулы



25

30

35

40

45

50

55

60

Пример	Условия реакции			Выход сополимера, %	Структура целевого сополимера		Гемодинамический эффект		Эффект при геморрагическом шоке			
	массовое соотношение карбоната и полимера	молекулярная масса полимера	pH		I	n	максимальное изменение АД, % к исходному уровню	продолжительность изменения АД, мин	Продолжительность жизни, мин	Эффект увеличения МОК*	Децентризация кровообращения	Величина АД на фоне геморрагии, мм рт. ст.
2	1:1	$6 \cdot 10^4$	8	37,5	0,13	0,54	-17	5	40	-	+	125
3	1:1,5	$4 \cdot 10^4$	7,5	35	0,13	0,54	-17	5	245	-	+	130
4	1:3	$4 \cdot 10^4$	7	40	0,17	0,50	-18	5,5	320	-	+	130
5	1:5	$6 \cdot 10^4$	8	42	0,2	0,47	-20	6	360	-	+	135
6												
(контр.)	1:7	$6 \cdot 10^4$	8	46	0,2	0,47	-20	6	360	-	+	135
7												
(контр.)	1:1	$4 \cdot 10^4$	9	15	0,13	0,54	-17	5	245	-	+	125
8	Дофамин						+37	2-3 мин	300±55	+	+	90-100
(сравн.)												
9	Имобилизованный дофамин (10)						-50	1	-	-	-	-
(сравн.)												
10	Фентоламин (11)						-11	20 мин	-	-	-	-
(сравн.)												
11	Пентамин (12)						-27	45 мин				
(сравн.)												
12	Сополимер L-лизин-L-глутамат						Эффекта нет					
(сравн.)												
13	Без добавки сополимера								108±23	-	-	40-50
(сравн.)												
14	Гиперсоматический раствор хлористого натрия (2400 ммоль/л; 4 мл/кг)								Данных нет	+	Данных нет	81
(сравн.)												

* МОК - минутный объем кровообращения

** Значение параметра к во всех примерах составляет 0,33 мол.д.

Dialog

Copolymer of L-lysine and L-glutamic acid having prolonged hypotensive activity - is prepd. by treating L-lysine L-glutamic acid copolymer with t-butyl-oxy carbonyl deriv. of dopamine
Patent Assignee: AS USSR HIGH MOL CPDS INST; LENGD CARDIOLOGY INST; LENGD FIRST AID RES INS'
Inventors: GUSEL V A; TSYRLIN V A; VLASOV G P

Patent Family

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type
SU 1469826	A1	19951120	SU 4091452	A	19860530	199627	B
			SU 4091453	A	19860530		

Priority Applications (Number Kind Date): SU 4091453 A (19860530); SU 4091452 A (19860530)

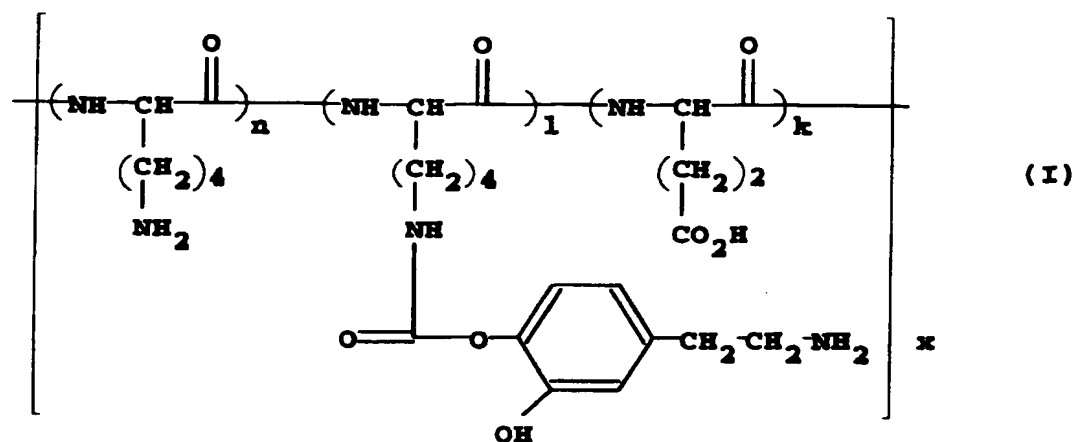
Patent Details

Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
SU 1469826	A1		6	C08G-069/10	

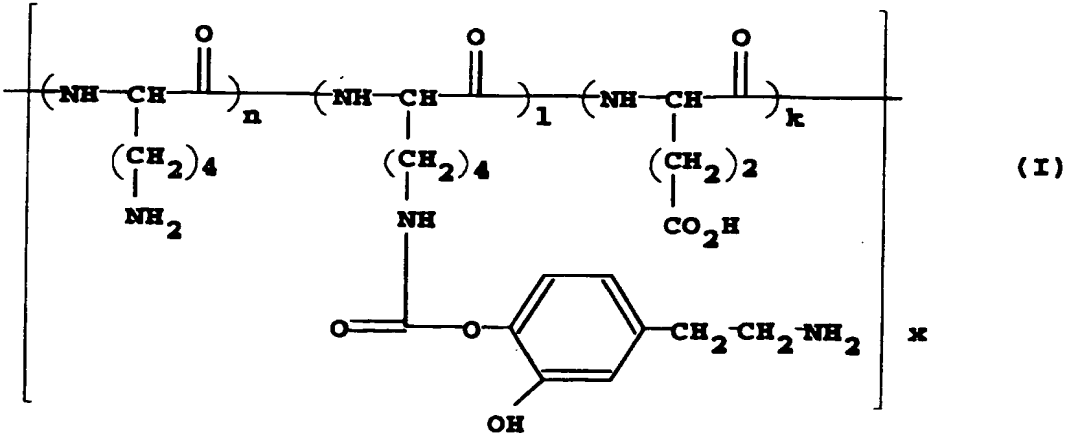
Abstract:
U 1469826 A

Copolymer of L-lysine and L-glutamic acid contg. side dopamine groups is of formula (I).
 $n = 0.47-0.54$; $l = 0.13-0.20$; $k:(l+n) = 0.33:0.67$; x not defined; mol. mass = 40000-60000.
Synthesis includes treating 1 pt.wt. copolymer contg. 67 mol.% L-lysine and 33 mol.% L-glutamic acid in aq. soln. at pH 7-8, with 1-5 pts.wt. carbonate of tert-butyloxycarbonyl deriv. of dopamine.
The mass ratio of carbonate to polymer is 1:1-1:5; the output of copolymer is 35-42%. The haemo-dynamic effect: max. change in AD w.r.t. initial level (-20)-(-17); time of change in AD: 5-6 hrs.; effect in haemorrhage shock: lifetime 40-36 mins.; increase in min. vol. of blood circulation (MOK): -; decentralisation of blood circulation: +; magnitude of AD on background of haemorrhage: 125-135 mm Hg.
SE - Used in chemistry of polymers and in medicine; in polymeric physiologically active prepn. having prolonged hypotensive activity and compensator effect in haemorrhage shock.

wg.0/0



Derwent World Patents Index
 2005 Derwent Information Ltd. All rights reserved.
 Dialog® File Number 351 Accession Number 10769798



erwent World Patents Index
2005 Derwent Information Ltd. All rights reserved.
ialog® File Number 351 Accession Number 10769798

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.